

**PENGARUH PENAMBAHAN SENYAWA AMONIUM
SULFAT, UREA, DAN SODIUM DODESIL SULFAT
TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR
SELULASE ASAL *Bacillus subtilis* SF01**



KRISTIAN ADI SANTOSO

2443012067

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA

SURABAYA

2016

**PENGARUH PENAMBAHAN SENYAWA AMONIUM SULFAT,
UREA DAN SODIUM DODESIL SULFAT TERHADAP AKTIVITAS
EKSTRAK KASAR SELULASE ASAL *Bacillus subtilis* SF01**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
Memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

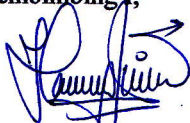
OLEH:

KRISTIAN ADI SANTOSO

2443012067

Telah disetujui pada tanggal 1 Juni 2016 dan dinyatakan LULUS

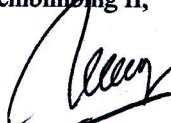
Pembimbing I,



Dr. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si.

NIK. 241.00.0437

Pembimbing II,



Henry Kurnia S., S.Si., M.Si., Apt

NIK. 241.97.0283

Mengetahui,
Ketua Penguji



(Prof. Dr. Ami Soewandi J.S.)

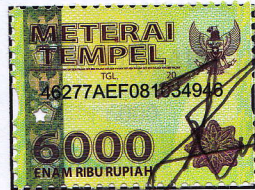
NIK. 241.02.0542

LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Pengaruh Penambahan Senyawa Amonium Sulfat, Urea, dan Natrium Dodecil Sulfat Terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Selulase Asal *Bacillus subtilis* SF01** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 1 Juni 2016



Kristian Adi Santoso

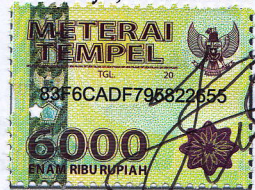
2443012067

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Kristian Adi Santoso
(2443012067)

Surabaya, 1 Juni 2016



Kristian Adi Santoso
2443012067

Kata kunci: Selulase, *Bacillus subtilis* SF01, sodium dodesil sulfat, urea, amonium sulfat

ABSTRAK

PENGARUH PENAMBAHAN SENYAWA AMONIUM SULFAT, UREA, DAN SODIUM DODESIL SULFAT TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM SELULASE ASAL *Bacillus subtilis* SF01

Kristian Adi Santoso
(2443012067)

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh penambahan senyawa amonium sulfat, sodium dodesil sulfat (SDS), dan urea terhadap aktivitas selulase dari *Bacillus subtilis* SF01, untuk memberikan informasi yang menunjang proses produksi, purifikasi, dan karakterisasi enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01. Selulase diproduksi melalui fermentasi dalam media NB + CMC 1% selama 21 jam. Kadar protein dalam ekstrak kasar enzim ditentukan dengan metode Bradford dan pembandingan BSA. Aktivitas selulase ditentukan menggunakan substrat CMC 1% pada pH 5,0 dan suhu 60°C. Gula pereduksi yang dihasilkan direaksikan dengan asam 3,5-dinitrosalisilat dan diamati secara spektrofotometri pada 550 nm, dengan pembandingan glukosa. Pengaruh senyawa amonium sulfat, urea dan sodium dodesil sulfat diuji dengan mencampur enzim dan larutan senyawa selama 20 menit, sebelum direaksikan dengan substrat. Hasil peningkatan atau penurunan aktivitas enzim ditentukan kebermaknaannya secara statistik (*One Way* ANOVA, $\alpha = 95\%$). Amonium sulfat menurunkan aktivitas spesifik enzim pada rentang konsentrasi 6,6 % hingga 19,8 %. SDS meningkatkan aktivitas spesifik enzim pada rentang konsentrasi 0,1 % hingga 2 %. Urea tidak memberikan pengaruh peningkatan maupun penurunan aktivitas spesifik enzim yang signifikan pada rentang konsentrasi 6 % hingga 30 %.

Kata kunci: Selulase, *Bacillus subtilis* SF01, sodium dodesil sulfat, urea, amonium sulfat

ABSTRACT

THE EFFECT OF ADDITION OF AMMONIUM SULPHATE, UREA, AND SODIUM DODECYL SULPHATE COMPOUNDS ON THE ACTIVITY OF CRUDE EXTRACT OF CELLULASE ENZYM FROM *Bacillus subtilis* SF01

Kristian Adi Santoso
(2443012067)

Research on the effect of ammonium sulfate, sodium dodecyl sulphate (SDS), and urea addition towards the activity of cellulase from *Bacillus subtilis* SF01 had been done, to provide information that support the production process, purification, and characterization of cellulase from *Bacillus subtilis* SF01. Cellulase was produced by fermentation in media NB + CMC 1% for 21 hours. The protein content in crude extract enzyme was determined by Bradford method and BSA as the reference. Cellulase activity was assayed using 1% CMC substrate at pH 5.0 and temperature 60°C. Reducing sugar yielded was reacted with 3,5-dinitrosalicylic acid and observed spectrophotometrically at 550 nm, using glucose as the reference compound. The effect of ammonium sulfate, urea and sodium dodecyl sulphate were tested by mixing the enzyme and compounds solution for 20 minutes, before reacting it with the substrate. The resulting increase or decrease in enzyme activity was determined its significance statistically (One Way ANOVA, $\alpha = 95\%$). Ammonium sulfate decreased the specific activity of the enzyme in the concentration range of 6.6% to 19.8%. SDS increased the specific activity of enzyme in the concentration range of 0.1% to 2%. Urea did not give any effect in increasing or decreasing the specific activity of enzyme significantly in the concentration range of 6% to 30%.

Keywords: Cellulase, *Bacillus subtilis* SF01, sodium dodecyl sulphate, urea, ammonium sulphate

KATA PENGANTAR

Puji syukur dan terima kasih kepada Allah YHWH atas segala kasih dan pertolongannya sehingga dapat terselesaikannya skripsi yang berjudul **“PENGARUH PENAMBAHAN SENYAWA AMONIUM SULFAT, UREA DAN SODIUM DODESIL SULFAT TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR SELULASE ASAL *Bacillus subtilis* SF01”**. Adapun skripsi ini merupakan prasyarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Menyadari tanpa bantuan dari berbagai pihak, skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik, maka rasa terima kasih yang sebesar - besarnya disampaikan kepada :

1. Allah YHWH dan Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan hikmat yang luar biasa kepada saya sehingga naskah skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Papa saya Budi Santoso, Mama saya Linda Krisnawati, Cece saya Melina Dewi Santoso, adik saya Christover Adi Santoso dan semua keluarga besar yang telah memberikan dukungan moral maupun materi sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Terima kasih atas cinta, doa dan kasih sayang kalian.
3. Ibu Dr. Lanny Hartanti, M.Si. dan Bapak Henry Kurnia S., S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu dan tenaga serta dukungan, petunjuk, pemikiran, petuah, wejangan dan saran yang sangat berharga selama penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini.
4. Bapak Prof. Dr. Ami Soewandi, Apt. dan Bapak Yudy Tjahjono, B.Sc., M.Sc.Biol selaku tim penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang sangat berguna bagi penyusunan skripsi ini.

5. Bapak Drs. Kuncoro Foe, Ph.D., G.Dip.Sc., Apt. selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, atas sarana dan prasarana serta kesempatan yang diberikan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
6. Dekan Fakultas Farmasi Ibu Martha Ervina, S.Si, M.Si., Apt yang telah membantu dalam memberikan sarana dan fasilitas sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
7. Fakultas Farmasi melalui LPPM yang telah menyediakan dana selama pengerjaan skripsi.
8. Mbak Tyas, Mas Rendy, dan Mas Anto yang membantu penulis dalam pengerjaan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
9. Kepala laboratorium Proteomik Institut Tropical Disease Universitas Airlangga yang telah mengizinkan penulis menggunakan sarana dan prasana penunjang sehingga skripsi ini boleh selesai dengan baik.
10. Tim *supervisor* Lab Proteomik, Mas Ivan, Mbak Anita dan Mbak One yang tetap tulus dan sabar dalam memberikan penjelasan dan arahan kepada penulis selama proses pengerjaan dan penyusunan naskah skripsi ini.
11. Teman – teman seperjuangan SF01, Billy, Ce Revon, Kak Sonde, Lavenia, Paula, Liana, yang telah banyak membantu dan bekerja sama dengan baik demi terselesaikannya skripsi ini.
12. Teman-teman tercinta Billy, Liana, Ce Revon, Marcell, Hendrianto, Kak Ria, Devina, Paula, Lavenia, teman-teman dari kelas biokimia enzim dan Can Family yang telah memberikan semangat, doa dan tenaganya dari awal hingga akhir penyusunan skripsi.
13. Teman - teman seperjuangan angkatan 2012 dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, yang telah membantu serta memberikan dukungan semangat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Menyadari keterbatasan pengetahuan dalam menyajikan skripsi ini, dengan senang hati penulis menerima kritik, saran, dan tanggapan yang positif untuk penyusunan skripsi ini.

Surabaya, 1 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Hipotesis Penelitian.....	6
1.5. Manfaat Penelitian.....	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Tinjauan tentang Mikroba Selulolitik.....	7
2.2. Tinjauan tentang Isolat <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01.....	7
2.3. Tinjauan tentang Selulosa.....	10
2.4. Tinjauan tentang Enzim Selulase.....	11
2.5. Aktivitas Enzim.....	15
2.5.1. Pengaruh Suhu.....	17
2.5.2. Pengaruh pH.....	17
2.5.3. Mekanisme Kerja Enzim – Substrat	18
2.6. Pemurnian Protein dengan Senyawa Amonium sulfat, Urea, dan Sodium Dodesil Sulfat.....	19

	Halaman
2.6.1. Amonium sulfat.....	19
2.6.2. Urea.....	20
2.6.3. Sodium Dodesil Sulfat (SDS).....	21
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	22
3.1. Jenis Penelitian.....	22
3.2. Sampel, Bahan, dan Alat Penelitian.....	22
3.2.1. Sampel Penelitian.....	22
3.2.2. Bahan Penelitian.....	23
3.2.3. Alat Penelitian.....	23
3.3. Metode Penelitian.....	23
3.3.1. Pembuatan Media Cair Produksi.....	23
3.3.2. Pembuatan Media Cair Inokulum.....	24
3.3.3. Pembuatan Media Padat.....	24
3.3.4. Pembuatan Substrat Carboxymethyl Cellulose (CMC) 1%.....	24
3.3.5. Pembuatan Buffer Universal pH 5.....	24
3.3.6. Pembuatan Pereaksi Asam Dinitrosalisilat.....	25
3.3.7. Pembatan Pereaksi Bradford.....	25
3.3.8. Pembuatan Kurva Standar Glukosa.....	25
3.3.9. Pembuatan Kurva Standar Protein Bovine Serum Albumin (BSA).....	26
3.3.10. Produksi Enzim.....	26
3.3.11. Penentuan Kadar Protein Enzim.....	26
3.3.12. Uji AKtivitas Enzim.....	26
3.3.12.1. Uji Blangko Substrat.....	26
3.3.12.2. Uji Blangko.....	27
3.3.12.3. Uji Senyawa Amonium Sulfat, Urea, dan Sodium Dodesil Sulfat....	27

	Halaman
3.4. Analisis Data Kurva Baku Standar Glukosa dan Aktivitas Enzim.....	28
3.5. Analisis Data Kurva Standar Protein Bovine Serum Albumin (BSA) dan Aktivitas Spesifik Enzim.....	29
3.6. Analisis Data Statistik.....	29
3.7. Diagram Alir.....	31
BAB 4. HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1. Hasil Percobaan.....	32
4.1.1. Kurva Standar Glukosa.....	32
4.1.2. Kurva Standar Protein Bovine Serum Albumin (BSA).....	34
4.1.3. Kurva Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Dengan Penambahan Senyawa Amonium Sulfat, Urea, dan Sodium Dodesil Sulfat.....	35
4.1.3.1. Kurva Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Dengan Penambahan Amonium Sulfat.....	36
4.1.3.2. Kurva Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Dengan Penambahan Urea.....	38
4.1.3.3. Kurva Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Dengan Penambahan Sodium Dodesil Sulfat.....	39
4.2. Pembahasan.....	41
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
5.1. Kesimpulan.....	46
5.2. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Hasil BLAST isolat bakteri SF01.....	9
2.2. Mikroorganisme dengan kemampuan selulolitik.....	14
4.1. Data kurva standar glukosa.....	32
4.2. Data kurva standar protein BSA	34
4.3. Data kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan amonium sulfat.....	36
4.4. Data kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan urea.....	38
4.5. Data kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan sodium dodesil sulfat.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Aktivitas enzim selulase asal isolate <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 pada berbagai variasi suhu.....	9
2.2. Aktivitas enzim selulase asal isolate <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 pada berbagai variasi pH.....	10
2.3. Struktur kimia selulosa.....	11
2.4. Struktur enzim selulase asal <i>Bacillus subtilis</i> 168 (3PZT), (a) monomer, (b) dimer.....	12
2.5. Struktur sisi pengikatan substrat pada enzim selulase asal <i>Bacillus subtilis</i> 168 (3PZT).....	13
2.6. Struktur sisi katalitik pada enzim selulase asal <i>Bacillus subtilis</i> 168 (3PZT).....	13
2.7. Degradasi selulosa oleh selulase.....	15
2.8. Reaksi enzimatis.....	18
2.9. Interaksi enzim dan substrat model <i>Induced Fit</i>	19
3.1. Diagram alir penelitian.....	31
4.1. Grafik kurva standar glukosa dengan metode spektrofotometri.....	33
4.2. Grafik kurva standar protein BSA dengan metode spektrofotometri.....	34
4.3. Grafik kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan amonium sulfat.....	37
4.4. Grafik kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan urea.....	39
4.5. Grafik kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan SDS.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. PEMBUATAN REAGEN.....	56
B. HASIL UJI STATISTIKA KURVA STANDAR GLUKOSA.....	58
C. HASIL UJI STATISTIKA KURVA STANDAR PROTEIN BSA.....	60
D. PENENTUAN AKTIVITAS ENZIM SELULASE DENGAN METODE DNS.....	62
E. PENENTUAN KADAR PROTEIN SELULASE DENGAN METODE BRADFORD.....	63
F. HASIL UJI SPSS (ONE WAY ANOVA; POST HOC TUKEY HSD, ($\alpha=95\%$)) VARIABEL AMONIUM SULFAT, UREA, DAN SODIUM DODESIL SULFAT (SDS).....	64
G. TABEL R.....	67
H. TABEL F.....	68